昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, July 2008, 51(7):761 - 768 ISSN 0454-6296

昆虫嗅觉受体的研究进展

巩中军[1],周文武[1,2],祝增荣[1,*],程家安[1]

(1. 浙江大学昆虫科学研究所/水稻生物学国家重点实验室,杭州 310029;2. 南京农业大学生命科学学院,南京 210095)

摘要:昆虫的嗅觉对昆虫的栖息地选择、觅食、群集、趋避、繁殖以及信息传递等行为具有重要的影响。对昆虫嗅觉机理的深入研究和嗅觉信号传导途径的完整阐述,是探索农业害虫的专一性防治的基础。嗅觉受体(olfactory receptors,Ors)是 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor)的一种,是嗅觉系统的关键成分。近年来嗅觉受体的研究日益受到关注。本文对昆虫嗅觉的基本过程、基因结构和表达调控特征、蛋白分子结构、生理功能、分布部位和相关配体的研究等进行了综述。

关键词:嗅觉受体;昆虫嗅觉;G 蛋白偶联受体;嗅觉神经;气味;配体

中图分类号:Q966 **文献标识码**:A **文章编号**:0454-6296(2008)07-0761-08

Advances in the studies of insect olfactory receptors

GONG Zhong-Jun[1], ZHOU Wen-Wu[1,2], ZHU Zeng-Rong[1,*], CHENG Jia-An[1] (1. Institute of Insect Sciences, Zhejiang University/State Key Laboratory of Rice Biology, Hangzhou 310029, China; 2. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The olfaction has many important effects on insect behavior, including habitat choosing, food hunting, gathering, tropism, reproduction, signal communication, *etc*. In order to control the pest more efficiently, it is necessary to explore and understand the mechanism and signal transduction pathway of insect olfaction. Olfactory receptor (OR), as a kind of G protein-coupled receptors, is a key component of the olfactory system. In recent years, more attention is being paid to OR. In this mini-review article, we summarized the process of insect olfaction, the structure and expression regulation of receptor genes, the molecular structure, function and distribution of receptor proteins, and the study of some related ligands.

Key words: Olfactory receptor; insect olfaction; G protein-coupled receptor; olfactory neuron; odorant; ligand

为了感知所处环境的物理化学性质,生物体进化出了高度特异性的感觉系统。这些系统将感觉器官受到的刺激转化成为各种信号,进而直接或间接地影响着个体生活的方方面面,如行为、生理和代谢等。随着对哺乳动物嗅觉的分子研究进一步深入,以及对其机理的探索所取得的突破,昆虫嗅觉的分子研究迅速发展起来。并且,由于具有深厚的遗传学、显微成像学、行为学等研究基础,昆虫成为阐明嗅觉机理的非常适宜的模型。

昆虫的嗅觉影响着昆虫的栖息地选择、繁殖、觅食、群集、飞翔、趋避及信息传递等行为。嗅觉受体(olfactory receptors,Ors)作为嗅觉系统的关键成分之一,对嗅觉受体的研究是认识昆虫化学信号的分子识别机制的重要环节。自在家蚕 *Bombyx mori* 中鉴定了第一个信息素(Butenande *et al*., 1959),此后,大量研究集中在昆虫化学生态学上。上世纪 90 年代前,对昆虫嗅觉的研究主要集中在器官水平,包括嗅觉细胞的定位、嗅觉感器结构、嗅觉感器对底物的电生理反应等。这些研究提出了关于嗅觉受体分子存在的假设(Kafka and Neuwirth, 1975; Kikuchi, 1975),并推测它们是蛋白质(Villet, 1974; Frazier and Heitz, 1975)。90 年代初期,在脊椎动物褐家鼠

基金项目:国家重点基础研究发展规划("973"计划)项目(2002CB11140300);国家自然科学基金项目(30571259, 30528024, 3039735);浙江省科技计划(2006C22023)

作者简介:巩中军,男,1978 年生,博士,研究方向为昆虫分子生态学,E-mail:gongzj_2@hotmail.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail:zrzhu@zju.edu.cn

收稿日期 Received:2008-01-07;接受日期 Accepted:2008-04-25

Rattus norvegicus 中首先发现了嗅觉基因家族(Buck and Axel，1991)，这一研究获得 2004 年的诺贝尔生理学或医学奖；接着在线虫 *Caenorhabditis elegans* 中也发现了这类基因(Troemel *et al*.，1995)，昆虫嗅觉传导的分子研究也在同一时期发展起来。首先发现气味分子能诱导一种位于嗅觉细胞膜上具有电化学转换功能的第二信使(Breer *et al*.，1990)，并在研究气味的刺激作用时，在嗅觉感受细胞中引出了一条 G 蛋白介导的信号流(Breer *et al*.，1994)。同时，在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 体内发现了类似 G 蛋白偶联受体的神经肽受体(Li *et al*.，1991，1992；Monnier *et al*.，1992)以及糖蛋白激素受体(Hauser *et al*.，1998)，这些受体的基因被克隆并异源表达分析，在研究东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 的神经肽时也发现了传递胺、肽和激素等物质刺激信号的 G 蛋白偶联受体(Schoofs *et al*.，1993)。在完整的触角和触角匀浆中，许多实验表明诸如肌醇三磷酸(inositol-1，4，5-trisphosphate，IP3)、环磷腺苷(cyclic adenosine-3′，5′-monophosphate，cAMP)和环磷鸟苷(cyclic guanosine-3′，5′-monophosphate，cGMP)等依赖信息素作用的第二信使的存在，暗示嗅觉受体是 G 蛋白偶联家族的成员(Kaissling，1998)。与此同时，嗅觉系统的其他要素，诸如气味结合蛋白(odorant binding proteins，OBPs)和气味降解酶(odor degrading enzymes，ODEs)等也得到了深入研究(Leal，2003；Vogt，2003)，丰富了嗅觉信号网络的内容，使研究者们有了一个更宽的视角。随着果蝇基因组的计划的实施，学者们能通过生物信息学手段，用不同的算法从 DNA 数据库推算了一些可能成为嗅觉受体基因的序列。接着运用组织特异性表达分析和 RNA 原位杂交技术(*in situ* hybridization，ISH)等检测这些序列的特异性表达，明确了 19 种果蝇嗅觉基因(Clyne *et al*.，1999；Gao and Chess，1999；Vosshall *et al*.，1999)。伴随果蝇基因组测序的完成，发现的嗅觉受体基因的个数也增加到了 62 个(Robertson *et al*.，2003)。对其他昆虫的类似研究，特别是一些农业害虫、特种经济昆虫以及具有环境和医疗价值的昆虫，也在最近十年内开展起来。

1 昆虫嗅觉的基本过程

昆虫的体表丛立着含有众多化学感受器的鬃毛(bristles)，鬃毛内部为感受嗅觉和味觉的神经元。其中，毛形感受器(sensilla)分布在触角和下颚须上，而味觉感受器集中在口器和足上。它们主要有锥形、腔锥形和毛形 3 种形态。研究表明不同形状的感受器能选择性地接收某一类的化学物质的刺激(Yao *et al*.，2005)。不同昆虫之间，嗅觉感受器的大小、分布和数量变化很大，在果蝇中，嗅觉感受器位于触角的第 3 节以及口器的下颚须上。每个嗅觉感受器含有 1 至 4 根嗅觉感受神经元(olfactory receptor neurons，ORNs)，这些神经细胞属于双级神经元，每个细胞在树突部的细胞膜上能特异性表达相应的嗅觉受体蛋白(Stocker，1994)。这些神经细胞的胞体位于触角角质表皮的下方，而树突端则延伸到嗅觉感受器，并浸没在表皮细胞分泌的富含钾离子和蛋白质的淋巴液内(Stocker，1994)。表达相同嗅觉受体的神经元汇集到触角叶中相同的神经纤维球或者功能性处理单位中。这些神经元最终将嗅觉信号传导到脑部的触角叶结构(Smith，2007)，从而在昆虫的脑部形成关于该气味分子的抽象信息。嗅觉感受器的表皮上分布有许多小孔，环境中的气味分子能穿过这些小孔扩散到嗅觉感受器的淋巴液中，通过与水溶性的气味结合蛋白形成复合物或直接作用到嗅觉受体上，进而发生信号转导。

2 昆虫嗅觉受体的蛋白结构

目前还没有关于嗅觉受体蛋白结晶结构的报道。作为 G 蛋白偶联受体的一种，推测它们的结构类似于视紫红质(rhodopsin)，为 G 蛋白偶联受体的一种，其结晶结构已在 2000 年被报道(Palczewski *et al*.，2000)，以及受到广泛研究的肾上腺素受体(adrenoceptor)，这种推测被一些突变分析和分子动力学模型所支持。

根据对视紫红质的研究，典型的 G 蛋白偶联受体具有下列结构：1 个膜内的 C 末端、7 个 α 螺旋跨膜结构区域、3 个胞内环、3 个胞外环和 1 个膜外的 N 末端。7 个跨膜区域富含高度疏水的氨基酸序列，形成一个由 7 个 α 螺旋束组成的圆柱形空间结构。对果蝇嗅觉受体的研究表明，大部分嗅觉受体蛋白的 7 个跨膜区域包含一个保守片段(Phe-Pro-X-Cys-Tyr-(X)20-Trp)，在这些跨膜区域中，横跨第 6 和第 7 跨膜区域的 3′区域保守性最高。果蝇的嗅觉受体基因通常编码 370 ~ 400 个氨基酸，而比较特殊的 Or83b 受体的基因则编码 486 个氨基酸(Vosshall，2003)。

嗅觉受体蛋白有两种主要的构型：静止构型和

活性构型。这两种构型的互变是通过各种跨膜成分的位移造成的。而这种位移的产生则因为一些小分子或肽类物质同时作用到受体分子的一些区域上（Gether and Kobilka，1998；Palczewski *et al*.，2000）。嗅觉受体遵循视紫红质和相关 G 蛋白偶联受体的一些功能特性，如：对应配体的作用部位分布在该化合物的整个结构上，而不是局限于单个功能性基团，因而受体的很多部分共同参与结合作用（Katada *et al*.，2005）。又由于长链的脂肪族化合物可能形成很多不同的构型，所以识别某长链脂肪族分子的受体也能识别该化合物家族的相关分子（Malnic *et al*.，1999）。

最近的研究发现，昆虫的嗅觉受体基因在分子结构上与其他动物有所区别，并且可能与典型的 G 蛋白偶联受体有不同的进化起源。抗体标记实验表明，果蝇中至少有两种嗅觉受体的膜结合结构不同于典型的 G 蛋白偶联受体，表现在它们的 N 末端位于细胞质膜内，C 末端在细胞质膜外（Benton，2006）。计算机模型分析（隐含马尔可夫模型，Markov model）的结果也支持这种结构上的差异（Wistrand *et al*.，2006）。如果昆虫的嗅觉受体在膜上的分布是一种反向的 G 蛋白偶联受体结构，那么它们是怎样传递嗅觉信号的呢？一种可能是，在胞内存在一些与传统的 G 蛋白偶联受体类似的结构区域，并能导致配体依赖性的细胞内 G 蛋白激活；另一种可能是，这些受体利用一种未知的机制或途径来触发动作电位，因为虽然在异种细胞内表达果蝇嗅觉受体蛋白也能导致信号途径的激活，这种激活作用到底是不是由嗅觉受体的 G 蛋白介导还有待进一步研究。

在鳞翅目昆虫嗅觉的研究中，从美洲野蚕 *Antheraea polyphemus* 嗅觉感受神经元细胞膜提取物中纯化并克隆了一组感觉神经元膜蛋白（sensory neuron membrane protein，SNMP），免疫学分析表明该蛋白只在嗅觉感受器纤毛、树突和神经元胞体中存在（Rogers *et al*.，1997）。序列分析表明它存在两个跨膜结构和一个较大的胞外环，类似于脊椎动物 CD36 家族的蛋白（一种类似于受体的膜蛋白）。Nichols 和 Vogt（2008）从 *Drosophila melanogaster*，*D. pseudoobscura*，冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 和埃及伊蚊 *Aedes aegypti*（Diptera）的基因组中分别鉴定了 12 ~ 14 种，从意大利蜜蜂 *Apis mellifera*（Hymenoptera）中鉴定了 8 种，从赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*（Coleoptera）中鉴定了 15 种 SNMP/CD36 类似物，并根据序列相似性和内含子位置，将昆虫的 SNMP/CD36 基因分成 3 组。从它们的组织分布可以推测 SNMP 可能是嗅觉受体的一种。另外，研究表明跨膜蛋白鸟苷酸环化酶（guanylyl cyclase）也可能是一种嗅觉受体蛋白，尽管目前还未找到该蛋白的配体（L'etoile and Bargmann，2000）。这些发现不仅有助于对嗅觉受体功能特性的研究，更促进了对嗅觉途径的多样性的认识。

3　昆虫嗅觉受体的功能

要了解嗅觉系统是如何识别气味物质，首先要知道单个嗅觉受体识别气味化合物的方式。嗅觉受体蛋白在异源系统中的表达表现出高度的复杂性，在转基因表达时发现，在异源生物系统中合成的大部分受体分子并不被运输到细胞质膜上，而留在了内质网中，这可能因为一些未知的辅助分子丢失了。由此，结合基因突变和行为学观察的方法成为分析某种受体的功能的主要途径。通过在触角中过表达受体 Or43a，Stärtkuhl 和 Kettler（2001）第一次在果蝇中测定了该受体的功能。之后，又建立突变的缺乏内源嗅觉受体的神经元，用这种'空白神经元'作为活体表达系统（Hallem *et al*.，2004），将通过原位杂交研究发现的 29 种受体（Vosshall *et al*.，2000）在空白神经元中表达并检测分析（Hallem and Carlson，2006）。研究果蝇感知二氧化碳的味觉受体 Gr21a 和 Gr63a 时，采用了缺失 Gr63a 的突变型个体（Jones *et al*.，2007）。对果蝇 Gr28 基因的研究表明其在感觉神经和中枢神经中非典型表达（atypical expression），除识别外源气味分子外，可能还参与内源配体的识别（Thorne and Amrein，2008）。

嗅觉受体的信号转导作用的初期包括三种类型的蛋白依次相互作用，即嗅觉受体、G 蛋白和一些效应酶类。催化第二信使分子（如 cAMP 等）形成的效应物打开离子通道，并使嗅觉神经元细胞膜去极化，进而产生受体感应电势。这种效应物现在发现是磷脂酶 C（Breer *et al*.，1994），能够催化 IP3 和甘油二酯（diacyglycerol，DAG）中的磷脂酰肌醇磷酸氢盐（PI-3，4-P2，PIP2）水解，这些化合物各自的角色还没有得到彻底阐明（Zufall and Hatt，1991；Stengl，1994；Pophof and Naters，2002）。Sato 等（2008）最近的研究表明昆虫 Ors 包含一个新的种类——由配体激活的非选择性阳离子通道。通过膜外向外式膜片钳技术，在爪蟾卵母细胞和 HEK293T 细胞膜表达昆

虫 OR 复合物，证明其本身具有通道活性，且形成的配体门控离子通道可能是昆虫获得的对气味环境反应的一个独特策略。在这些研究的基础上，对昆虫嗅觉受体神经元中早期信号传递的模型也粗略地建立起来。

目前，对蛾类的性信息素受体的功能研究比较深入。蛾类的性信息素一般是 2 到 3 种包含 12 到 16 个碳原子的碳水化合物分子的混合物，雄蛾的信息素感受系统专门识别雌蛾散发的极微量的这类信息素(Sakurai *et al*., 2004；Ansebo *et al*., 2005)。

4 昆虫嗅觉受体基因的表达调控特征

对一种嗅觉受体基因的筛选和表达的研究是一个多水平的过程。首先，要选择一个特殊的亚组基因，这个亚组的基因要表现出空间上和时间上的有限表达；第二，要以一种随机的方式选择一个特异性的嗅觉受体，并且对其他所有的嗅觉受体基因施加负反馈调控。由此，能够确定一个嗅觉受体的基因。

在对家蚕 *B. mori* 的性信息素受体 Bmor-1 的研究中，发现编码该受体的基因位于性染色体 Z 上，拥有 8 个外显子/7 个内含子的结构，在蛹期的晚期和成虫阶段能特异性地在雄性的信息素受体神经元中表达(Sakurai *et al*., 2004)。近来的研究还发现，一些嗅觉受体基因特异性地在雄性昆虫的触角中表达，如在家蚕和烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 中的信息素受体(Krieger *et al*., 2003；Sakurai *et al*., 2004；Nakagawa *et al*., 2005)。

一种特异的嗅觉受体神经元只表达一种嗅觉受体基因，即神经元-受体一对一的表达方式(one neuron-one receptor)，该表达方式的复杂性对机体而言是一个相当大的挑战。在哺乳动物中，存在一种依靠负反馈作用阻碍在单个神经元中表达一种以上嗅觉受体基因的机制。在昆虫中，也需要存在一种能调控某个嗅觉基因在单个神经元中、在感受器中以及在感觉器官中的表达水平的机制。对果蝇的研究表明神经元特异的选择性拼接、细胞特异的转录因子和器官特异的逆调节因子共同控制嗅觉神经元中嗅觉受体基因的表达。用大肠杆菌刺激免疫系统 8 h 后，蜜蜂 Obp17 基因被激活，并且该基因的转录水平和蛋白表达水平相反。在受刺激的工蜂中，OBP17 的蛋白量非常低，而 mRNA 量却很高。这种 mRNA 和蛋白丰度的差异可能归因于转录后调节机制，即单个转录产物通常不会仅翻译产生一个蛋白(Scharlaken *et al*., 2008)。研究发现当单个嗅觉受体基因异位表达在上颚须时，它们并不阻碍其他嗅觉受体基因的表达，意味着果蝇中这些基因的表达是允许的，而且没有涉及到负反馈机制(Ray *et al*., 2007)。

神经元-受体一对一的表达方式也存在一些特例，如昆虫嗅觉受体 Or83b 亚族，发现其在大约占总嗅觉受体神经元数量的三分之二的嗅觉受体神经元中与其他受体共表达。在果蝇、冈比亚按蚊和夜蛾等昆虫中，基因敲除后的 *Or83b* 突变体的嗅觉相关行为严重损伤，基因拯救后又恢复正常，这表明 *Or83b* 基因在昆虫嗅觉行为中具有普遍的作用。用气味物质刺激共表达 *Or22a* 和 *Or83b* 的哺乳动物细胞导致非选择性阳离子激活，这种激活涉及一个离子型和代谢型通路，以及一个并发的细胞内钙浓度增加。单独表达 *Or83b* 导致功能性离子通道不直接对气味物质反应，而被细胞内 cAMP 或 cGMP 水平直接激活(Wicher *et al*., 2008)。

Or83b 受体的另一个特征是在很多昆虫种类中高度保守，不同昆虫间氨基酸序列表现出约 70% 的同源性(Hill *et al*., 2002；Krieger *et al*., 2003；Pitts *et al*., 2004)；棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 与近缘种烟蚜夜蛾 *H. virescens* 氨基酸同源性高达 99.4%(王桂荣等，2005)；对水稻害虫的研究发现，鳞翅目昆虫之间该基因的氨基酸序列相似性达 94%，与致倦库蚊 *Culex pipiens quinquefasciatus*、冈比亚按蚊 *A. gambiae*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 相比，氨基酸序列相似性达到 83%。另外，*Or83b* 基因由于其保守性，也可作为判断昆虫进化的一个参数，如本实验室通过水稻重要害虫二化螟 *Chilo suppressalis*（螟蛾科）的 *Or83b* 基因的氨基酸、核苷酸序列与其他已报道的昆虫相比对发现，作为鳞翅目螟蛾科昆虫，二化螟与柞蚕 *Antheraea pernyi*（大蚕蛾科）、家蚕(家蚕蛾科)的关系比与其他夜蛾科昆虫更近(另文发表)。推测 *Or83b* 等非典型的受体可能具有以下两种功能：一是在某个嗅觉感受神经元内它能够独立地结合特殊的配体，而和它共表达的其他嗅觉受体则不能结合；二是它可能协助其他的嗅觉受体基因，通过与其二聚体化来识别多样的气味物质(Larsson *et al*., 2004)。另外，在研究冈比亚按蚊和果蝇对 CO_2 的识别时，发现这种识别作用依赖在同一个神经元内共表达两种非 Or83b 嗅觉受体，而不是分别和 Or83b 共表达(Jones *et al*., 2007)。这个发现对于神

经-受体一对一的表达方式是一种挑战，也暗示了昆虫嗅觉系统可能更为复杂。

在昆虫嗅觉受体基因进化的研究上，发现宿主的类型和数量是影响昆虫嗅觉受体基因进化的两个主要因素(McBride，2007)。当宿主资源发生改变时(如在不同植株间或不同植物种类间)，除了食物资源的适宜度外，嗅觉受体的进化将受到包括新宿主植物上存在的未知毒素，陌生的细菌和真菌等微生物，天敌，产卵场所及交配环境等的影响。嗅觉受体必须适应各种新的化合物，使昆虫抵抗来自新环境的各种挑战。

在嗅觉受体基因的进化上，对人类(Ben-Arie *et al*.，1994)、鱼(Ngai *et al*.，1993)和鸟类(Nef *et al*.，1996)的研究表明其序列在脊索动物门中有很强的保守性(Mombaerts *et al*.，1999)，但研究同时发现，脊椎动物和线虫的嗅觉基因与昆虫的嗅觉基因间序列相似性很低，这可能从另一个角度解释了昆虫嗅觉受体在空间结构上与哺乳动物典型的 G 蛋白偶联受体相逆。然而最近的研究还发现，就昆虫纲本身来说，其中的各物种的嗅觉基因也表现出很低的序列同源性，如：果蝇中该基因之间的同源性只有 17% ~ 26%，烟芽夜蛾与果蝇的同源性仅有 7% ~ 16%，一些较近缘的昆虫才达 40% ~ 60%。在一些极端情况下，同源性甚至更小。昆虫嗅觉受体基因家族为什么表现这种高度的离散？其起源和演化过程到底是什么样的？这些问题还有待解释。

5　嗅觉受体的配体

找到某嗅觉受体对应的特定配体，如植物挥发物、天敌或同类发出的对昆虫有排斥或诱导的气味物质，是将昆虫嗅觉的理论研究落实到实际的害虫防治等应用的前提。如今，尽管数百个嗅觉受体基因已经被克隆出来，然而仅对其中一小部分所对应的蛋白结构做出了分析，而有关嗅觉受体配体物质的研究更是处于起步阶段。从自然界大量的气味物质中推断潜在的配体物质是研究者们面临的一个主要问题。

嗅觉受体通常对于一组高度相关的成分反应最强烈，而对相关程度较远的物质则具有较低的敏感性。如今发现的很多配体都包含醛基或酮基。对配体最广泛的分析是在小鼠的嗅觉受体 I7 上面进行的，它是以 *n*-辛醛作为主要配体的。碳氢链的长度是另一个影响配体功效的分子特性，在大多数例子中，长碳氢链导致更牢固的结合。在对苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 幼虫的研究中，分别用 11 种植物成分、主要的性信息素、3 种微量的信息素以及 1 种行为拮抗剂对其触角进行筛选，发现嗅觉神经元对其中一些成分能产生反应，并且对某些成分的反应具有性别特异性，还发现有的神经元能对 1 ~ 3 种气味分子起反应，表明了效应谱上存在某种重叠(Ansebo *et al*.，2005)。

一些研究表明嗅觉受体神经元的气味-受体响应谱、时间动态和对某一特定气味分子的响应模式(激发或抑制)差异甚大，有的嗅觉受体神经元对一系列气味响应较广，如对许多植物的挥发物的响应；另一些则很窄，如对特定性信息素成分的响应就非常专一(de Bruyne *et al*.，2001；Dobrista *et al*.，2003；Goldman *et al*.，2005)。在测定了大多数嗅觉受体对各种气味物质的敏感性后，学者们开始考虑这些受体作为一个整体是如何解码气味物质的种类和数量。在最近一项对果蝇嗅觉系统做 '全局性 '检测(选取 110 种气味物质，主要是腐烂果实散发的物质，分别用不同的浓度作用于在空白神经元中表达的 24 种嗅觉受体)的研究表明：单个挥发物一般不会激发气味感受的整体性反应；一些气味物质对受体抑制的现象很普遍；只有 3 种气味物质不能激发或抑制任何一种受体(Hallem and Carlson，2006)。

在研究方法上，功能缺失突变结合行为学分析的方法虽然在研究嗅觉神经元功能时表现出良好的效果，但这种研究毕竟是对嗅觉受体功能的一种间接评价。找到一种比较直观反映嗅觉受体和配体结合的研究方法，是当前研究的热点。近几年发展出通过下游的一些参数来评估的方法，比如嗅觉神经元细胞膜电位的改变(Störtkuhl and Kettler，2001；Dobritsa *et al*.，2003)，或者细胞内 Ca^{2+} 离子水平的升高。如哺乳动物中不同浓度的气味物质对小鼠神经元的研究(Gautam *et al*.，2006)，以及在 Sf9 昆虫细胞中表达嗅觉蛋白，然后通过钙成像反映受体的气味反应谱，这一系统不需要气味结合蛋白和下游信号转导因子，且反应的敏感度高(Kiely *et al*.，2007)。

6　小结与展望

自从果蝇基因组的研究完成，昆虫基因组测序现在正飞速发展。第一张家蚕基因组的草图已经于 2004 年发表；冈比亚按蚊、烟芽夜蛾、意大利蜜蜂、

丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* 等已完成了基因组测序，其他的一些昆虫基因组也在测序中。随着昆虫基因组序列库数量的不断扩增，更多物种的嗅觉受体被将发现并鉴定出来。根据现有的报道，黑腹果蝇的基因组有 62 种嗅觉受体，由 60 种基因所编码（Vosshall *et al*.，1999）；在作为疟疾载体的冈比亚按蚊中发现了 80 种嗅觉受体（Hill *et al*.，2002；Iatrou and Biessmann，2008）；在鳞翅目的家蚕中发现了 48 种嗅觉受体（Wanner *et al*.，2007）；在烟芽夜蛾中发现了 18 种（Krieger *et al*.，2002，2004）；蜜蜂的嗅觉基因达到 163 个；而赤拟谷盗中嗅觉受体则达到了 259 个，数量明显增加（Engsontia *et al*.，2008）。传播黄热病的埃及伊蚊（Melo *et al*.，2004）等其他昆虫中也相继发现类似嗅觉受体的序列。

当然，随着研究的深入，学者们也不断遇到各种难点和问题，如昆虫的嗅觉受体的结构越发表现出一种与典型的 G 蛋白偶联受体反向的跨膜分布，这导致了研究者们必须换一个角度来分析这种新结构的功能。另外，嗅觉系统中各种新化合物和蛋白的发现，显著扩充了嗅觉途径网络的宽度，使得寻找嗅觉系统的新成分以及了解如此多的化合物与嗅觉受体之间的关系成为一个复杂的课题。再者，环境中各种化合物对嗅觉受体的作用还没有直观地展现出来，而嗅觉受体的结晶体获得则有待相关实验技术水平的进一步提高。

在嗅觉受体的灵敏度和表达的丰度的相关性上，由于单食性取食某种植物对于昆虫生存不利，而对多食性类型的昆虫而言，在面对同一地区存在的不同种寄主植物时，是什么因素导致他们偏好于取食其中一种植物？而从植物的角度上来看，那些不被某种昆虫取食的植物到底是因为不能散发某些特定的对昆虫有诱惑作用的气味物质，还是因为散发了对某些昆虫具有强烈排斥作用的物质？另外，昆虫生活史的不同阶段，其嗅觉系统之间的区别也有待研究。

在嗅觉受体的功能研究上，随着研究技术手段的革新，包括细胞系等异源表达系统、遗传学、电生理学、药理学、行为学手段以及 RNA 干扰技术的应用，嗅觉受体功能的研究将得到快速的发展。由于一些昆虫如蚊子是众多疾病的传播媒介，而目前世界上广泛使用的高效广谱蚊虫昆虫驱避剂——避蚊胺（DEET）对人类的毒性很强，过去 60 多年里，在寻找新的更为有效和安全的驱避剂方面没有取得大的进展，对冈比亚按蚊和果蝇的研究表明 DEET 能够抑制嗅觉神经元对气味分子的电生理反应，且作用靶标为 OR + Or83b 的复合体（Ditzen *et al*.，2008），这种候选 DEET 作用靶标的发现及昆虫嗅觉受体的独特分子特征可以为发展更安全有效的新型害虫驱避剂提供帮助。另外，昆虫作为一种良好的模式生物，对其嗅觉的研究能够有助于人类嗅觉研究的发展，这对于人类的一些嗅觉上的遗传病诊断和治疗有着积极的意义。而且，农业生产上 25% 的损失都是由昆虫直接或间接危害所引起的（Oerke *et al*.，1999），研究昆虫的嗅觉对农业害虫的生物防治有深远影响。因而对昆虫嗅觉受体的研究，无论在植物保护，或动物和人类健康保护方面，都具有重要的作用和发展前景。

参 考 文 献（References）

Ansebo L，Ignell R，Löfqvist J，Hansson BS，2005. Responses to sex pheromone and plant odours by olfactory receptor neurons housed in sensilla auricillica of the codling moth，*Cydia pomonella*（Lepidoptera：Tortricidae）. *J. Insect Physiol*.，51：1 066 – 1 074.

Ben-Arie N，Lancet D，Taylor C，Khen M，Walker N，Ledbetter DH，Carrozzo R，Patel K，Sheer D，Lehrach H，North MA，1994. Olfactory receptor gene cluster on human chromosome 17：possible duplication of an ancestral receptor repertoire. *Hum. Mol. Genet*.，3：229 – 235.

Benton R，2006. On the origin of smell：odorant receptors in insects. *Cell. Mol. Life Sci*.，63：1 579 – 1 585.

Breer H，Boekhoff I，Tareilus E，1990. Rapid kinetics of second messenger formation in olfactory transduction. *Nature*，345：65 – 68.

Breer H，Raming K，Krieger J，1994. Signal recognition and transduction in olfactory neurons. *Biochim. Biophys. Acta*，1 224：277 – 287.

Buck L，Axel R，1991. A novel multigene family may encode odorant receptors：a molecular basis for odor recognition. *Cell*，65：175 – 187.

Butenandt A，Groschel U，Karslon P，Zillig W，1959. N-acetyl tyramine，its isolation from *Bombyx cocoons* and its chemical and biological properies. *Arch. Biochem. Biophys*.，83：76 – 83.

Clyne PJ，Warr CG，Freeman MR，Lessing D，Kim J，Carlson JR，1999. A novel family of divergent seven-transmembrane proteins：candidate odorant receptors in *Drosophila*. *Neuron*，22：327 – 338.

de Bruyne M，Foster K，Carlson JR，2001. Odor coding in the *Drosophila* antenna. *Neuron*，30：537 – 552.

Ditzen M，Pellegrino M，Vosshall LB，2008. Insect odorant receptors are molecular targets of the insect repellent DEET. *Science*，319：1 838 – 1 842.

Dobritsa AA，van der Goes van Naters WG，Warr CG，Steinbrecht RA，Carlson J，2003. Integrating the molecular and cellular basis of odor coding in the *Drosophila antenna*. *Neuron*，37：827 – 841.

Engsontia P，Sanderson AP，Cobb M，Walden KK，Robertson HM，Brown S，2008. The red flour beetle's large nose：an expanded odorant receptor gene family in *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol*.，38：387 – 397.

Frazier JL，Heitz JR，1975. Electrophysiological studies of the interactions of sulfhydryl reagents with insect olfactory receptors. *J. Miss. Acad. Sci.*，19：188.

Gao Q，Chess A，1999. Identification of candidate *Drosophila* olfactory receptors from genomic DNA sequence. *Genomics*，60：31 – 39.

Gautam SH，Otsuguro K，Ito S，Saito T，Habara Y，2006. Intensity of odorant stimulation affects mode of Ca^{2+} dynamics in rat olfactory receptor neurons. *Neurosci. Res.*，55：410 – 420.

Gether U，Kobilka BK，1998. G protein-coupled receptors Ⅱ. Mechanism of agonist activation. *J. Biol. Chem.*，273(29)：17 979 – 17 982.

Goldman AL，van der Goes van Naters WG，Lessing D，Warr CG，Carlson JR，2005. Coexpression of two functional odor receptors in one neuron. *Neuron*，45：661 – 666.

Hallem EA，Carlson JR，2006. Coding of odors by a receptor repertoire. *Cell*，125：143 – 160.

Hallem EA，Fox AN，Zwiebel LJ，Carlson JR，2004. Mosquito receptor for human-sweat odorant. *Nature*，427：212 – 213.

Hauser F，Sondergaard L，Grimmelikhuijzen CJ，1998. Molecular cloning，genomic organization and developmental regulation of a novel receptor from *Drosophila melanogaster* structurally related to gonadotropin-releasing hormone receptors for vertebrates. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*，249：822 – 828.

Hill CA，Fox AN，Pitts RJ，Kent LB，Tan PL，Chrystal MA，Cravchik A，Collins FH，Robertson HM，Zwiebel LJ，2002. G protein-coupled receptors in *Anopheles gambiae*. *Science*，298：176 – 178.

Iatrou K，Biessmann H，2008. Sex-biased expression of odorant receptors in antennae and palps of the African malaria vector *Anopheles gambiae*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，38：268 – 274.

Jones WD，Cayirlioglu P，Kadow IG，Vosshall LB，2007. Two chemosensory receptors together mediate carbon dioxide detection in *Drosophila*. *Nature*，445：86 – 90.

Kafka WA，Neuwirth J，1975. A model of pheromone molecule-acceptor interaction. *Z. Naturforsch.*，30：278 – 282.

Katada S，Hirokawa T，Oka Y，Suwa M，Touhara K，2005. Structural basis for a broad but selective ligand spectrum of a mouse olfactory receptor：Mapping the odorant-binding site. *J. Neuronsci.*，25(7)：1 806 – 1 815.

Kaissling KE，1998. Pheromone deactivation catalyzed by receptor molecules：a quantitative kinetic model. *Chem. Senses*，23：385 – 395.

Kiely A，Authier A，Kralicek AV，Warr CG，Newcomb RD，2007. Functional analysis of a *Drosophila melanogaster* olfactory receptor expressed in Sf9 cells. *J. Neurosci. Methods*，159：189 – 194.

Kikuchi T，1975. Correlation of moth sex pheromone activities with molecular characteristics involved in conformers of bombykol and its derivatives. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，72：3 337 – 3 341.

Krieger J，Grosse-Wilde E，Gohl T，Dewer YME，Raming K，Breer H，2004. Genes encoding candidate pheromone receptors in a moth (*Heliothis virescens*). *Proc. Natl Acad. Sci. USA*，101：11 845 – 11 850.

Krieger J，Klink O，Mohl C，Raming K，Breer H，2003. A candidate olfactory receptor subtype highly conserved across different insect orders. *J. Comp. Physiol. A*，189：519 – 526.

Krieger J，Raming K，Dewer YME，Bette S，Conzelmann S，Breer H，2002. A divergent gene family encoding candidate olfactory receptors of the moth *Heliothis virescens*. *Eur. J. Neurosci.*，16：619 – 628.

Larsson MC，Domingos AI，Jones WD，Chiappe ME，Amrein H，Vosshall LB，2004. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila olfaction*. *Neuron*，43：703 – 704.

Leal WS，2003. Proteins that make sense. In：Blomquist GJ，Vogt RG eds. Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier Academic Press，London. 447 – 476.

L'etoile ND，Bargmann CI，2000. Olfaction and odor discrimination are mediated by the *C. elegans* guanylyl cyclase ODR-1. *Neuron*，25：575 – 586.

Li XJ，Wolfgang W，Wu YN，North RA，Forte M，1991. Cloning，heterologous expression and developmental regulation of a *Drosophila* receptor for tachykinin-like peptides. *EMBO J.*，10：3 221 – 3 229.

Li XJ，Wu YN，North RA，Forte M，1992. Cloning，functional expression，and developmental regulation of a neuropeptide Y receptor from *Drosophila melanogaster*. *J. Biol. Chem.*，267：9 – 12.

Malnic B，Hirono J，Sato T，Buck LB，1999. Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*，96：713 – 723.

McBride CS，2007. Rapid evolution of smell and taste receptor genes during host specialization in *Drosophila sechellia*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，104：4 996 – 5 001.

Melo ACA，Rützler M，Pitts RJ，Zwiebel LJ，2004. Identification of a chemosensory receptor from the yellow fever mosquito，*Aedes aegypti*，that is highly conserved and expressed in olfactory and gustatory organs. *Chem. Senses*，29：403 – 410.

Monnier D，Colas JF，Rosay P，Hen R，Borrelli E，Maroteaux L，1992. NKD，a developmentally regulated tachykinin receptor in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.*，267：1 298 – 1 302.

Nakagawa T，Sakurai T，Nishioka T，Touhara K，2005. Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors. *Science*，307：1 638 – 1 642.

Nef S，Allaman I，Fiumelli H，De Castro E，Nef P，1996. Olfaction in birds：differential embryonic expression of nine putative odorant receptor genes in the avian olfactory system. *Mech. Dev.*，55：65 – 77.

Ngai J，Dowlmg MM，Buck L，Axel R，Chess A，1993. The family of genes encoding odorant receptors in the channel catfish. *Cell*，72：657 – 666.

Nichols Z，Vogt RG，2008. The SNMP/CD36 gene family in Diptera，Hymenoptera and Coleoptera：*Drosophila melanogaster*，*D. pseudoobscura*，*Anopheles gambiae*，*Aedes aegypti*，*Apis mellifera*，and *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，38：398 – 415.

Oerke EC，Dehne HW，Schönbeck F，Weber A，1999. Crop Production and Crop Protection. Elsevier Sciences BV，Amsterdam，the Netherlands. 830 pp.

Palczewski K，Kumasaka T，Hori T，Behnke CA，Motoshima H，Fox BA，Trong IL，Teller DC，Okada T，Stenkamp RE，Yamamoto M，Miyano M，2000. Crystal structure of Rhodopsin：A G protein-coupled receptor. *Science*，289(4)：739 – 745.

Pitts RJ，Fox AN，Zwiebel LJ，2004. A highly conserved candidate chemoreceptor expressed in both olfactory and gustatory tissues in the

malaria vector *Anopheles gambiae*. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *USA*, 101：5 058－5 063.

Pophof B，Naters WG，2002. Activation and inhibition of the transduction process in silkmoth olfactory receptor neurons. *Chem*. *Senses*, 27：435－443.

Ray A，Naters WG，Shiraiwa T，Carlson JR，2007. Mechanisms of odor receptor gene choice in *Drosophila*. *Neuron*, 53：353－369.

Robertson HM，Warr CG，Carlson JR，2003. Molecular evolution of the insect chemoreceptor gene superfamily in *Drosophila melanogaster*. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *USA*, 100：14 537－14 542.

Rogers ME，Sun M，Lerner MR，Vogt RG，1997. SNMP-1，a novel membrane protein of olfactory neurons of the silk moth *Antheraea polyphemus* with homology to the CD 36 family of membrane proteins. *J*. *Biol*. *Chem*., 272：14 792－14 799.

Sakurai T，Nakagawa T，Mitsuno H，Mori H，Endo Y，Tanoue S，Yasukochi Y，Touhara K，Nishioka T，2004. Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkmoth *Bombyx mori*. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *USA*, 101：16 653－16 658.

Sato K，Pellegrino M，Nakagawa T，Nakagawa T，Vosshall LB，Touhara K，2008. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature*, 452：1 002－1 006.

Scharlaken B，de Graaf DC，Goossens K，Peelman LJ，Jacobs FJ，2008. Differential gene expression in the honeybee head after a bacterial challenge. *Dev*. *Comp*. *Immunol*., 32：883－889.

Schoofs L，Vanden Broeck J，De Loof A，1993. The myotropic peptides of *Locusta migratoria*：Structures，distribution，functions and receptors. *Insect Biochem*. *Mol*. *Biol*., 23(8)：859－881.

Smith DP，2007. Odor and pheromone detection in *Drosophila melanogaster*. *Pflugers Arch*. *Eur*. *J*. *Physiol*., 454(5)：749－758.

Stengl M，1994. Inositol-triphosphate-dependent calcium currents precede cation currents in insect olfactory receptor neurons *in vitro*. *J*. *Comp*. *Physiol*. *A*, 174：187－194.

Stocker RF，1994. The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*：a review. *Cell Tissue Res*., 275：3－26.

Störtkuhl K，Kettler R，2001. Functional analysis of an olfactory receptor in *Drosophila melanogaster*. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *USA*, 98：9 381－9 385.

Thorne N，Amrein H，2008. Atypical expression of *Drosophila* gustatory receptor genes in sensory and central neurons. *J*. *Comp*. *Neurol*., 506：548－568.

Troemel ER，Chou JH，Dwyer ND，Colbert HA，Bargmann CI，1995. Divergent seven transmembrane receptors are candidate chemosensory receptors in *C*. *elegans*. *Cell*, 83：207－218.

Villet RH，1974. Involvement of amino and sulphydryl groups in olfactory transduction in silk moths. *Nature*, 248：707－709.

Vogt RG，2003. Biochemical diversity of odor detection：OBPs，ODEs and SNMPs. In：Blomquist GJ，Vogt RG eds. Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier Academic Press，London. 391－445.

Vosshall LB，2003. Diversity and expression of odorant receptors in *Drosophila*. In：Blomquist GJ，Vogt RG eds. Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier Academic Press，London. 567－591.

Vosshall LB，Amrein H，Morozov PS，Rzhetsky A，Axel R，1999. A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna. *Cell*, 96：725－736.

Vosshall LB，Wong AM，Axel R，2000. An olfactory sensory map in the fly brain. *Cell*, 102：147－159.

Wang GR，Wu KM，Su HH，Guo YY，2005. Gene cloning and tissue-specific expression of an olfactory receptor in *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomol*. *Sin*., 48(6)：823－828. [**王桂荣，吴孔明，苏宏华，郭予元**，2005. **棉铃虫嗅觉受体基因的克隆及组织特异性表达**. **昆虫学报**，48(6)：823－828]

Wanner KW，Anderson AR，Trowell SC，Theilmann DA，Robertson HM，Newcomb RD，2007. Female-biased expression of odourant receptor genes in the adult antennae of the silkworm，*Bombyx mori*. *Insect Mol*. *Biol*., 16：107－119.

Wicher D，Schäfer R，Bauernfeind R，Stensmyr MC，Heller R，Heinemann SH，Hansson BS，2008. *Drosophila* odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. *Nature*, 452：1 007－1 011.

Wistrand M，Käll L，Sonnhammer EL，2006. A general model of G protein-coupled receptor sequences and its application to detect remote homologs. *Protein Sci*., 15：509－521.

Yao CA，Ignell R，Carlson JR，2005. Chemosensory coding by neurons in the coeloconic sensilla of the *Drosophila* antenna. *J*. *Neurosci*., 25(37)：8 359－8 367.

Zufall F，Hatt H，1991. Dual activation of a sex pheromone-dependent ion channel from insect olfactory dendrites by protein kinase C activators and cyclic GMP. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *USA*, 88：8 520－8 524.

（责任编辑：赵利辉）